

Aus der Frauenklinik der Universität Marburg
Direktor: Prof. Dr. R. Buchholz

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EINFLUSS EINES
ALLOXANINDUZIERTEN DIABETES MELLITUS
AUF STOFFWECHSEL UND MORPHOLOGIE VON
RATTENPLAZENTEN

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

ULRICH CIRKEL
aus Dortmund

Marburg 1977

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg

Aus der Frauenklinik der Universität Marburg
Direktor: Prof. Dr. R. Buchholz

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EINFLUSS EINES
ALLOXANINDUZIERTEN DIABETES MELLITUS
AUF STOFFWECHSEL UND MORPHOLOGIE VON
RATTENPLAZENTEN

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

ULRICH CIRKEL

aus Dortmund

Marburg 1977

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg

Angenommen von dem Fachbereich Humanmedizin
der Universität Marburg am ...15. 4. 1977...



gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof. Dr. F. Neurath

Referent: Priv.-Doz. Dr. E. Stähler

Correferent: Prof. Dr. E. Daume

A. Einführung

B. Material und Methodik

B. 1. Material

B. 2. Schwangerschaftsverlauf

B. 3. Alloxandiabetes (Induktion und Therapie)

B. 4. Kontrollkollektiv

B. 5. Analysen

B. 6. Berechnung und statistische Methoden

C. Ergebnisse

D. Plazentamorphologie

E. Diskussion

F. Zusammenfassung

G. Literaturverzeichnis

ATP:	Adenosintriphosphat
ADP:	Adenosindiphosphat
GOT:	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT:	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
LDH:	Lactat-Dehydrogenase
G-6P-DH:	Glucose-6-Phosphatdehydrogenase
ICDH:	Isocitratdehydrogenase
MDH:	Malat-Dehydrogenase
HPL:	Human-Placenta-Lactogen
NADP:	Nikotinsäureamid-adenin-dinukleotid-phosphat
NAD:	Nikotinsäureamid-adenin-dinukleotid

Medizinhistorische Forschungen haben belegen können, daß der Diabetes als medizinischer Begriff bereits im dritten vorchristlichen Jahrhundert bei dem Arzt Demetrius von Apameia auftritt, dessen Schriften aber leider verlorengegangen sind. Seither haben sich unzählige Forschergenerationen mit diesem Krankheitsbild beschäftigt und erst die stürmische Entwicklung der Biochemie der letzten Jahrzehnte hat uns eine recht genaue Kenntnis um die Möglichkeiten von Diagnose und Therapie gebracht. Seit Banting und Best 1921 in Toronto erstmals das Insulin aus Pankreasextrakten isolierten, ist es jetzt kein Problem mehr mit Monospeziespräparaten und synthetischem Insulin (Sanger) diabetische Patienten erfolgreich zu behandeln. Das aber hat dazu geführt, daß die Fertilitätsquote der Diabetikerinnen, die ohne Behandlung meist kinderlos blieben, bei optimaler Stoffwechselführung denen Stoffwechselgesunder gleichkommt. So wird der Geburtshelfer heute immer häufiger mit dem Zusammentreffen von Diabetes und Schwangerschaft konfrontiert. Das Schicksal der Mutter, aber insbesondere das des Kindes, ist weitgehend abhängig von einer adäquaten Betreuung während der Schwangerschaft. Optimale Stoffwechselführung und rechtzeitiges Erkennen einer plazentaren Dysfunktion sind grundlegende Voraussetzungen für gute Behandlungsergebnisse.

Die Sterblichkeit von Diabetikerinnen im Zusammenhang mit Schwangerschaft, Geburt und Wochenbett liegt im Weltdurchschnitt bei 2 - 3 %, bei Stoffwechselgesunden bei 0,37 % (Huntingford, 1964 und Lane, 1963). Die perinatale Sterblichkeit der Kinder von Diabetikerinnen liegt dagegen bei 20 - 50 %, in unbehandelten Fällen sogar über 60 %. Bei guter Therapie läßt sich aber die perinatale Mortalität diabetischer Kinder auf 7 - 20 % senken (Heisig, 1975), womit sie aber immer noch deutlich über den Werten von Kindern gesunder Frauen liegt, der mit 2 - 3 % angegeben wird (Berger, 1957). Die Schwangerschaft bei einem bestehenden Diabetes mellitus birgt also in sich ein erhöhtes Risiko, da gehäuft Komplikationen eintreten, die einer schlechten Stoffwechselführung parallel laufen. So kommt es auf der Grundlage einer sich allmählich entwickelnden chronischen Plazentainsuffizienz, die beim Menschen nach der 37. Schwangerschaftswoche innerhalb weniger Tage in eine akute Form übergehen kann, zu einer globalen nutritiven und respiratorischen Insuffizienz, was zum intrauterinen Fruchttod führt. Die frühzeitige Erkennung einer chronischen Plazentainsuffizienz ist also von ausschlaggebender Bedeutung für das Schicksal des Kindes. Daher ist die Kenntnis um die Zusammenhänge der morphologischen und biochemischen

Veränderungen in diabetischen Plazenten von besonderem Interesse.

Vor allem durch tierexperimentelle Untersuchungen konnten bisher wichtige Ergebnisse über die Pathologie diabetischer Plazenten gewonnen werden, wobei vorrangig die Rattenplazenta als Untersuchungsobjekt diente, denn sie ist wie die menschliche Plazenta eine sogenannte "plazenta haemochorialis". Beide Plazentatypen sind sich daher vom Konstruktionsprinzip her sehr ähnlich, wenn auch die Rattenplazenta nicht so wie die "Topfplazenta" des Menschen Kotyledonen und einen einheitlichen Blutraum aufweist, sondern einen Chorionschwamm mit zahlreichen engen, von mütterlichem Blut durchströmten Gängen (Labyrinthplazenta). Auf die wichtigsten morphologischen und biochemischen Veränderungen in diabetischen Plazenten sei im folgenden kurz eingegangen:

In einer von Thomsen und Lieschke 1958 veröffentlichten Arbeit werden die morphologischen Kriterien diabetischer Plazenten zusammenfassend dargestellt:

1. Fast regelmäßig lassen sich jugendliche Zotten (Zottenregenerate) nachweisen, die alle Merkmale unreifer Elemente besitzen. Das fetale Plazentagefäßsystem entspricht einem frühzeitigeren Entwicklungszustand (beim Menschen der 12. - 14.

Schwangerschaftswoche).

2. In den Zotten findet sich meist ein ödematöses Stroma mit verdünnter Epithelleiste.
3. Diffus oder auch herdförmig begrenzt sind meist ausgedehnte Epitheldegenerationen nachweisbar, in deren Folge dann auch vorzeitige Kalkeinlagerungen auftreten.
4. Bei Untersuchungen des Kapillarsystems findet sich häufig ein gequollenes Endothel, was eine Verlängerung der Diffusionsstrecken zur Folge hat.

Bei derartigen morphologischen Befunden ist die Aufnahmefähigkeit für Sauerstoff tatsächlich herabgesetzt (Friedman , Little, Sachtleben, 1962). In seinen an über 210 diabetischen Plazenten durchgeführten Untersuchungen fand Horký 1965 zusätzlich zu den oben beschriebenen Veränderungen Störungen im placentaren Reifungsprozess, die in zwei Formen auftreten: Einmal als sog. "Maturitas retardata", wobei die Ausdifferenzierung der Plazenta gebremst wird, zum anderen als "Maturitas praecox" mit einer kompensatorischen Hypervaskularisation, die bis an die Grenze der Haemangiomatose reichen kann. Die Situation ist dabei für den Feten nicht ganz so schlecht wie bei der "Maturitas retardata" (Horký,

1968). Bei der alloxandiabetischen Ratte sollen diese Veränderungen dem Ausmaß der Hyperglykämie parallel laufen (Mohr, Althoff, Wrba, 1964).

Bei biochemischen Untersuchungen diabetischer Plazenten fiel auf, daß sich die Relation Plazentagewicht/DNA-, RNA-, Proteingehalt im Vergleich zu Normalkollektiven nicht verändert, daß aber das Verhältnis Plazentagewicht/fetales Gewicht unter dem Quotient der Normalverteilung liegt. Die Plazenten wiegen auch schwerer, was aber nicht auf die Akkumulation von Wasser zurückzuführen ist, sondern auf eine echte Vermehrung der Zellzahl (Winick, Noble, 1967). Der experimentelle Diabetes bei Ratten hat zur Folge, daß - auf das Frischgewicht bezogen - der Protein- und Fettgehalt in den Plazenten zunimmt, während der Wassergehalt sogar leicht abfällt (Pitkin, Plank, Filer, 1971). Es müssen also auch Störungen im Lipidstoffwechsel vorliegen, die bisher noch nicht untersucht wurden. Die Feten und Plazenten solcher diabetischer Ratten werden bei ungenügender Insulintherapie etwa um den 10. Schwangerschaftstag beginnend resorbiert (Solomon, 1959 und Lawrence, Contopoulos, 1960). Auch im Kohlenhydratstoffwechsel diabetischer Plazenten konnten Veränderungen nachgewiesen werden. So ist besonders die Glucoseutilisation vermindert (Uher, 1969) und Glykogen, ein Kohlenhydrat-Depot für den

Feten - auf der mütterlichen Seite der Plazenta lokalisiert - ist deutlich erhöht und damit für den Feten als Energie-Depot kaum mehr verwendbar (Heijken-skjöld, Gemzell, 1957). Das wichtigste Phänomen aber, der Endeffekt aller Störungen, ist die verminderte sekretorische Leistung der diabetischen Plazenta. So läßt sich mit radioaktiv markierten Präkursoren (^{14}C -Androstendion und ^{14}C -Dehydroepiandrosteron) zeigen, daß die Aromatisierungskapazität zu Oestrogen vermindert ist (Lehmann, Lauritzen, Schumann, 1973 und Schuhmann, Lehmann, 1973).

Durch die Bestimmung einiger zentraler Stoffwechselmetabolite und Schlüsselenzyme in alloxandibetischen Rattenplazenten sollte versucht werden, eine zusätzliche Information darüber zu erhalten, wie sich der Diabetes mellitus auf Plazenta und Fet auswirkt. Histologische Untersuchungen zur Plazentamorphologie sollten die biochemischen Ergebnisse erweitern.

B. 1. Material

Die Versuche wurden an weiblichen Sprague-Dawley Ratten durchgeführt. Das durchschnittliche Alter betrug 2 1/2 - 3 Monate, das Gewicht der Tiere lag im Bereich von 200 - 300 g, wobei die Tiere kurz vor dem Versuchsbeginn gewogen wurden. Zur freien Verfügung stand die Standard-Diät Altromin R sowie Wasser ad libitum. Futter und Wasser wurde den Tieren bis zum Ende des Versuches gegeben.

B. 2. Schwangerschaftsverlauf

Es ist bekannt, daß Ratten eine Tragzeit von 21 Tagen haben. Um einen einigermaßen genauen Anhalt zu bekommen, wann eine Gravidität vorlag, wurden die Tiere drei Nächte zum Bespringen beim Bock gelassen. Dieser Zeitraum wurde deshalb so gewählt, weil weibliche Ratten einen dreitägigen Zyklus haben und so der Zeitraum des Bespringens deutlicher eingegrenzt werden kann. Dann wurde weiterhin so vorgegangen, daß nach 6tägiger Dauer eines experimentell erzeugten Diabetes mellitus die Operation der Tiere erfolgte und zwar möglichst nahe am errechneten Termin. Die Narkotisierung erfolgte mit Äther.

B. 3. Alloxandiabetes (Induktion und Therapie)

Zur experimentellen Erzeugung eines Diabetes mellitus wurde Alloxan verwendet. Es wurde in Phosphat-Puffer (pH = 7,33) gelöst und in einer Dosis von 6 mg/100 g Rattenkörpergewicht in die Schwanzvene der Tiere injiziert, wobei die i.v. Injektion der Alloxan-Lösung sechs Tage vor Operationsbeginn stattfand, d. h. die Dauer des Diabetes kann bei den so behandelten Tieren als konstant angesehen werden. Während der diabetischen Stoffwechsellage mußten die graviden Tiere auf ihren Diabetes mellitus hin untersucht werden, was durch eine photometrische Blutzuckerbestimmung und durch einen Test auf Glucose im Harn vorgenommen wurde und soweit es höhere Blutzuckerspiegel erforderten, wurde mit Insulin substituiert (wegen der Gefahr des diabetischen Komas mit intrauterinem Fruchttod) (Lawrence, Contopoulos, 1960 und Younathan, 1962). Trotz einer Insulintherapie sollte eine gewisse diabetische Stoffwechsellage gewahrt bleiben. Als Orientierung der Einstellung des Diabetes unter diesen Bedingungen kann folgendes Beispiel gelten:

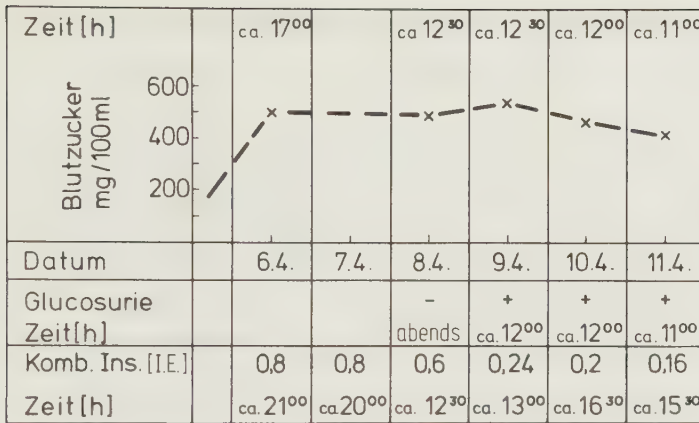


Abb. 1: Kontrolle des Blutzuckers, Test des Harnes
auf Glucosurie und Behandlung mit Komb.-Ins.

Zur Einstellung des Diabetes wurde Komb.-Insulin benutzt, das den diabetischen Tieren im Verlauf des Versuches in einer Dosis von 0,08 - 0,32 I.E. (Internationale Einheiten) gegeben wurde. Die Blutzuckerwerte, die die Tiere zur Zeit der Operation hatten, sind dem Ergebnisteil zu entnehmen.

B. 4. Kontrollkollektiv

Neben den auf diese Weise behandelten diabetischen Tieren wurde ein Kontrollkollektiv untersucht, das den gleichen Versuchsbedingungen unterlag, nur mit dem Unterschied, daß anstatt des Alloxans

eine isotonische NaCl-Lösung in die Schwanz-
vene injiziert wurde.

Alle Tiere wurden in Äthernarkose operiert. Es zeigte sich, daß die Muttertiere mehrere Plazenten und Feten in dem uterus bicornus trugen, wobei aber die verschiedenen Plazenten mit ihren Feten getrennt voneinander existierten, diese wurden entnommen und von Nabelschnüren und Amnionhäuten gesäubert. Blut zur Glucosebestimmung wurde durch Herzpunktion in allen Fällen entnommen.

B. 5. Analysen

Die bei der Operation erhaltenen Plazenten wurden nach Säuberung sofort für die Bestimmungen weiter aufgearbeitet. Die für die Messung von ATP, ADP, Pyruvat, Laktat, Glucose sowie Glykogen und Eiweiß vorgesehenen Plazenten wurden in flüssigen Stickstoff (-196°C) gelagert und anschließend gewogen. Sie wurden daraufhin im Verhältnis 1 : 4 mit 0,6 n HClO_4 versetzt. Dann erfolgte die Homogenisierung des Gewebes mit dem Ultrathorax. Das Homogenat wurde anschließend scharf abzentrifugiert, der klare Überstand wurde zur Bestimmung der Substrate

in die Testcombinationen der Firma Boehringer Mannheim eingesetzt.

Zur Glykogenbestimmung wurde von dem oben erwähnten Homogenat ausgegangen, es wurde mit 3 m KHCO_3 -Lösung neutralisiert. Ein Aliquot davon wurde mit Amylo-1,6-Glucosidase im Acetatpuffer bei pH = 4,8 versetzt. Danach erfolgte Inkubation über 60 Minuten bei $37,6^\circ \text{C}$. Nach der Inkubation erfolgte Zugabe von 1 n HClO_4 zur Ausfällung des Eiweißanteiles. Danach wurde abzentrifugiert und der klare Überstand in den Test zur Glucosebestimmung der Firma Boehringer Mannheim eingesetzt.

Der Proteingehalt der Plazenten wurde nach der Biuret-Methode bestimmt. Dabei wurde von dem Sediment nach Eiweißausfällung mit 0,6 n HClO_4 ausgegangen. Ein Aliquot des Sedimentes wurde abgewogen und im Verhältnis 1 : 100 mit Biuret-Reagenz versetzt, anschließend Behandlung mit dem Ultraschall-Homogenisator und Schütteln über 20 Minuten im Schüttelautomaten. Dann erfolgte der Einsatz im Photometer zur Bestimmung des Eiweißgehaltes.

Zur Bestimmung der Enzyme wurden die Plazenten sofort nach der Säuberung in eisgekühltem (4°C)

Phosphat-EDTA-Puffer gelagert ($\text{pH} = 7,2$) und sofort mit der Schere grob mechanisch zerkleinert. Dann erfolgte in den vorgewogenen Gläsern die Ermittlung des Gewichtes. Das endgültige Verhältnis Plazenta/Puffer betrug 1 : 20. Daraufhin wurde das Gewebe mit dem Ultrathorax aufgeschlossen und im anschließenden Arbeitsgang wurde bei 30000 g scharf abzentrifugiert. Der klare Überstand wurde in die Testcombinationen der Firma Boehringer Mannheim für die Enzyme GOT, GPT, LDH, G-6P-DH, ICDH und MDH eingesetzt.

Alle Substrat- und Enzymbestimmungen wurden an einem Photometer Eppendorf mit angeschlossener Schreibeinheit durchgeführt. Die Bestimmung des fetalen Gewichtes wurde durch Abwiegen ermittelt nach sorgfältiger Säuberung von Nabelschnur und Amnionhäuten.

B. 6. Berechnung und statistische Methoden *)

Die so ermittelten Werte wurden statistisch ausgewertet. Sie wurden bis auf Plazenta- und fetales Gewicht auf das Feuchtgewicht der Plazenta in (g) bezogen. Bei ihrer Berechnung war es notwendig, den Wassergehalt und das spezifische Gewicht der Plazenta zu kennen. Nach Pitkin, Plank, Filer (1971) zeigen Kontroll- und diabetische Tiere (Sprague-Dawley Ratten) keinen Unterschied im Wassergehalt. Er beträgt 85 % des Feuchtgewichtes der Plazenta. Dieser Wert wird durch Angaben des Wassergehaltes bei menschl. diabetischen Plazenten von Heijkenskjöld und Gemzell (1957) unterstützt. In guter Annäherung kann man bei Annahme dieses Wassergehaltes von 85 % auf die spez. Dichte der Plazenta von 1,06 schließen, die der des Blutes entspricht (Boehringer Mannheim, Test-Combination). Unter Berücksichtigung dieser Daten erhielt ich Meßreihen der einzelnen Bestimmungen, getrennt in Kontroll-

*) Für die Mithilfe bei der Erstellung der Statistik dieser Arbeit danke ich Herrn Prof. Dr. Ihm vom Institut für medizinische Statistik der Universität Marburg.

und diabetisches Kollektiv.

Für die weiteren statistischen Überlegungen war die Frage nach Normalverteilung weitgehend unbedeutend, da der Umfang der einzelnen Meßreihen zu gering war, als daß diese Frage hätte geklärt werden müssen. So wurde für jede dieser Reihen der Mittelwert $\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$, die Varianz $s^2, s^2 = \frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}$, und die sich aus der Varianz ergebende Standardabweichung $s = \sqrt{s^2}$ errechnet. Der daran anschließende F-Test mit dem auf ihm sich aufbauenden t-Test (Sachs, 1970, 1972; Topping, 1975) wurde nur dort gerechnet, wo es die Werte erforderten. Die durch die Tests erhaltenen Wahrscheinlichkeiten für die Gleichheit der Mittelwerte sind mit P benannt. Als Alternative zu dem F- und t-Test hätte der U-Test benutzt werden können.

Insgesamt wurden 13 Kontrolltiere, deren mittlerer Blutzuckerwert zum Zeitpunkt der Operation bei 70,39 mg Glucose/100 ml ($s = \pm 18,86$) lag, und 12 diabetische Tiere, die bei der Operation einen mittleren Blutzuckerwert von 366,54 mg Glucose/100 ml ($s = \pm 65,65$) aufwiesen, untersucht. Bei manchen dieser Tiere wurde ein Teil der Bestimmungen an mehreren Plazenten durchgeführt, so daß für 1 Tier zwei oder mehr Werte registriert wurden. Auf die Unabhängigkeit der Plazenten voneinander wurde schon an anderer Stelle hingewiesen.

Alle schnell wachsenden Gewebe mit einer hohen Mitoserate, so wie die Plazenta, sind stoffwechselaktiv und haben einen hohen Energieumsatz, wobei vor allem das Endsubstrat der Atmungskettenphosphorylierung, das ATP, von Bedeutung ist. Aus diesem Grunde schien es von Interesse zu überprüfen, ob eine diabetische Stoffwechsellage den ATP- und ADP-Spiegel im Plazentagewebe beeinflusst. In Abb. 2 sind die Ergebnisse graphisch dargestellt. Es zeigt sich, daß der mittlere ATP-Spiegel bei den diabetischen Tieren etwas tiefer liegt als bei den Kontrollen, wobei der Unterschied allerdings nicht statistisch signifikant ausfiel. Ein genau umgekehrtes Verhalten zeigte das ADP, das bei den diabetischen Tieren deutlich ansteigt

und somit zu einer signifikanten Veränderung führte ($P < 0,05$).

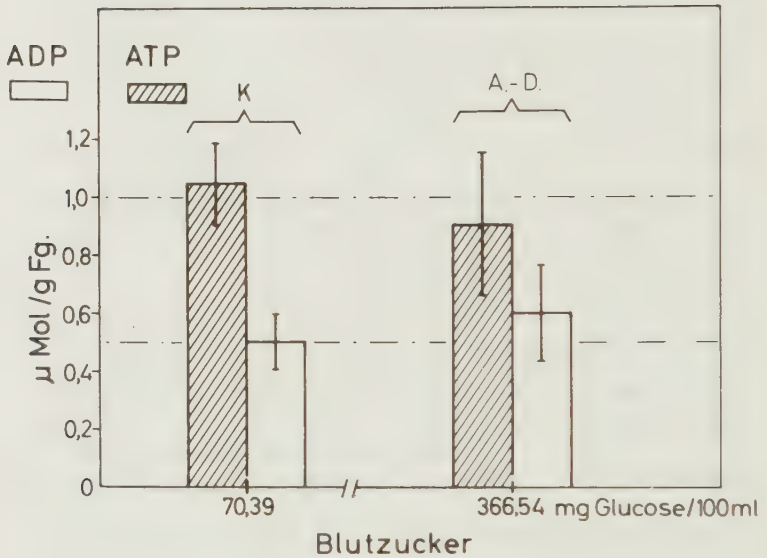


Abb. 2: Darstellung der ATP- und ADP-Spiegel im Plazentagewebe in Abhängigkeit vom Blutzucker

Tab. 1: ATP ($\mu\text{mol/g Fg.}$)

	$\bar{x}$	s	n	Tier- anzahl
Diabetes	0,908	$\pm 0,245$	16	9
Kontrolle	1,045	$\pm 0,14$	10	9

Tab. 2: ADP ($\mu\text{mol/g Fg.}$)

	$\bar{x}$	s	n	Tier- anzahl
Diabetes	0,603	$\pm 0,165$	17	11
Kontrolle	0,501	$\pm 0,097$	12	11

Wie bekannt ist, erfolgt die Regulation des Stoffwechsels im physiologischen Bereich nicht über die absoluten Konzentrationen der Metabolite, sondern durch das Verhältnis bestimmter Metabolite zueinander, durch sogenannte Redoxquotienten, wobei bekanntermaßen den beiden Redoxquotienten ATP/ADP sowie Laktat/Pyruvat als Regulativ im Stoffwechsel eine besondere Rolle zukommt. Aus Abb. 3 ist zu ersehen, wie sich der ATP/ADP-Quotient in Abhängigkeit vom Blutzucker in den Plazenten verändert. Als Normalwert fand sich bei einem Blutzucker von $70,39 \text{ mg}/100 \text{ ml}$ ein ATP/ADP-Quotient von 2,09, was physiologischen Verhältnissen

entspricht, bei einem Anstieg des Blutzuckers auf Werte um $366,54 \text{ mg}/100 \text{ ml}$ kommt es zu einem ganz deutlichen Abfall des Quotienten auf $1,51$. Interessanterweise ändert sich der Gesamtgehalt der beiden energiereichen Phosphate ATP + ADP in beiden Gruppen nicht. Er liegt bei den Kontrollen bei $1,54 \mu\text{mol}/\text{g Fg.}$ und bei den diabetischen Plazenten bei $1,51 \mu\text{mol}/\text{g Fg.}$

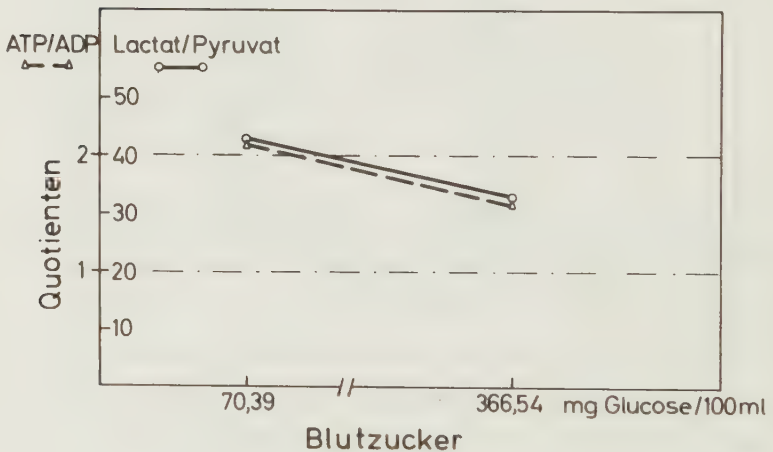


Abb. 3: Darstellung des ATP/ADP- und des Laktat/Pyruvat-Quotienten in Rattenplazenten in Abhängigkeit vom Blutzuckerspiegel

Tab. 3:

	ATP/ADP	Laktat/Pyruvat
Diabetes	1,51	32,9
Kontrolle	2,09	42,9

Laktat und Pyruvat, zwei Schlüsselsubstanzen der Glykolyse, wurden ebenfalls untersucht. Die Ergebnisse sind in Abb. 4 dargestellt. Wie zu sehen ist, hat die diabetische Stoffwechsellaage zu keiner Änderung im Laktatgehalt der Plazenten geführt, sowohl bei den Kontrollen als auch bei den diabetischen Plazenten fand sich ein Wert von $5,86 \mu\text{mol/g Fg.}$ Anders waren die Verhältnisse beim Pyruvat, das bei Blutzuckerwerten von $366,54 \text{ mg}/100 \text{ ml}$ in den Plazenten deutlich anstieg ($P < 0,001$) bis auf Werte von $0,178 \mu\text{mol/g Fg.}$ Aus Abb. 3 sind die Veränderungen des Laktat/Pyruvat-Quotienten zu entnehmen. Wie zu sehen ist, kommt es unter den angegebenen Versuchsbedingungen bei Blutzuckerwerten von $366,54 \text{ mg}/100 \text{ ml}$ zu einem Abfall des Quotienten, der aber auf dem Anstieg des Pyruvatgehaltes beruht und nicht auf einem Abfall des Laktates.

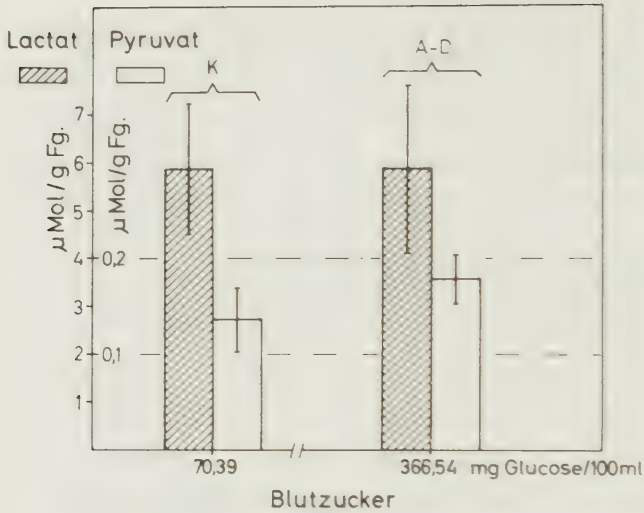


Abb. 4: Laktat, Pyruvat der Plazenta in Abhängigkeit des Blutzuckerspiegels

Tab. 4: Laktat ($\mu\text{mol/g Fg.}$)

	$\bar{x}$	s	n	Tier- anzahl
Diabetes	5,86	$\pm 1,75$	10	11
Kontrolle	5,86	$\pm 1,545$	14	13

Tab. 5: Pyruvat ($\mu\text{mol/g Fg.}$)

	$\bar{x}$	s	n	Tier- anzahl
Diabetes	0,178	$\pm 0,026$	17	9
Kontrolle	0,1365	$\pm 0,054$	13	12

Glucose, die Substanz, deren Erhöhung im Blut für einen diabetischen Zustand spricht, ist unter diesen pathologischen Bedingungen im Plazentagewebe der schwangeren Ratten stark erhöht. Diese Erhöhung ist so deutlich, daß auf einen statistischen Test verzichtet werden konnte. Bei dem überhöhten Glucoseangebot in der Plazenta liegt die Vermutung nahe, daß das Makromolekül Glykogen, das, wie bekannt, Glucose als Baustein benutzt, ebenfalls in seinem Anteil gesteigert ist. Wie aus Abb. 5 hervorgeht, liegt der Glykogengehalt in diabetischen Plazenten eindeutig über den Werten der Kontrolltiere.

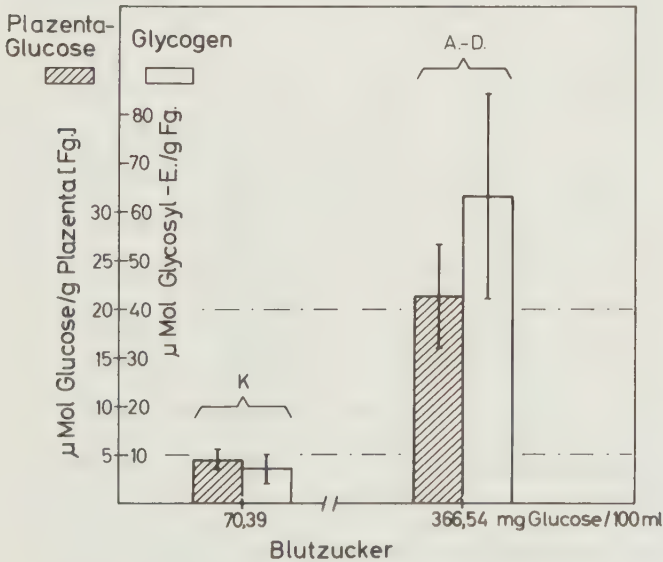


Abb. 5: Glucose und Glykogen der Plazenta in Abhängigkeit des Blutzuckers

Tab. 6: Plazenta-Glucose ($\mu\text{mol/g Fg.}$)

	$\bar{x}$	s	n	Tier- anzahl
Diabetes	21,4	$\pm 5,34$	19	11
Kontrolle	4,49	$\pm 1,015$	14	13

Tab. 7: Glykogen ($\mu\text{mol Glycosyl-E./g Fg.}$)

	$\bar{x}$	s	n	Tier- anzahl
Diabetes	51,4	$\pm 21,3$	8	7
Kontrolle	7,14	$\pm 2,94$	8	8

Der Proteingehalt lebender Gewebe ist ein weiterer Indikator für die Stoffwechselaktivität. Bei der hier angewandten Proteinbestimmung werden Strukturproteine und Enzyme erfaßt. Treten Änderungen im Gewicht der Gewebe auf, so läßt sich durch die Ermittlung des Proteingehaltes feststellen, ob z. B. eine Gewichtszunahme durch einen echten Substanzgewinn hervorgerufen wurde oder etwa durch vermehrte Wassereinlagerung. Abb. 6 zeigt das Verhalten des Proteinanteils in den Plazenten sowie das plazentare und fetale Gewicht in Abhängigkeit vom Blutzuckerspiegel. Wie zu sehen ist,

liegt der Proteingehalt in den diabetischen Plazenten so deutlich über dem Wert der Kontrolltiere, daß hier wie bei dem plazentaren Glucose- und Glykogen-Anteil auf einen statistischen Test verzichtet werden konnte. Im Gegensatz hierzu weisen das Gewicht von Plazenta und Fet eine gegenteilige Tendenz auf, das Plazentagewicht der Kontrollen lag signifikant höher als das der diabetischen Tiere ($P < 0,05$). Für das fetale Gewicht fiel der Vergleich noch deutlicher aus, auch hier führte die diabetische Stoffwechsellaage gegenüber der normalen zu einem vergleichsweise niedrigerem Gewicht ($P < 0,01$).

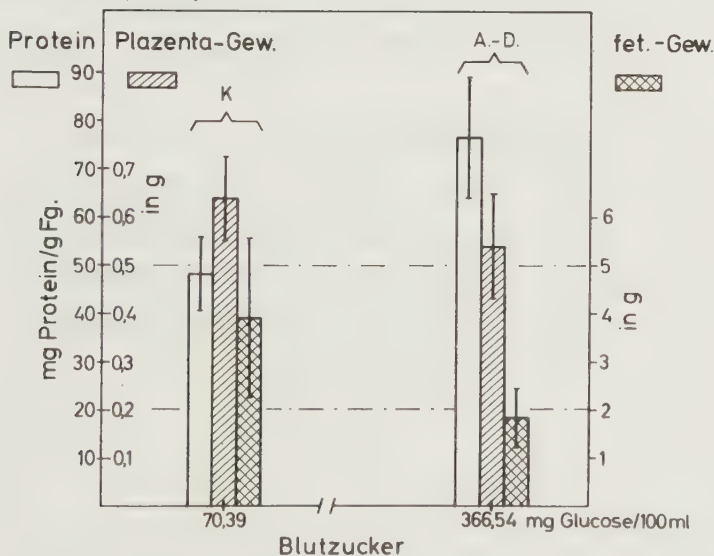


Abb. 6: Plazenta-Gewicht, fetales Gewicht und Proteinanteil der Plazenta in Abhängigkeit des Blutzuckerspiegels.

Tab. 8: Protein ($\frac{\text{mg}}{\text{g Fg.}}$)

	$\bar{x}$	s	n	Tier- anzahl
Diabetes	76,8	$\pm 12,6$	9	6
Kontrolle	48,25	$\pm 7,8$	14	13

Tab. 9: Plazenta-Gewicht (g)

	$\bar{x}$	s	n	Tier- anzahl
Diabetes	0,54	$\pm 0,11$	13	13
Kontrolle	0,64	$\pm 0,087$	13	13

Tab.10: fetales Gewicht (g)

	$\bar{x}$	s	n	Tier- anzahl
Diabetes	1,84	$\pm 0,63$	13	13
Kontrolle	3,92	$\pm 1,66$	13	13

Die vier wasserstoffübertragenden Enzyme LDH, MDH, ICDH, G-6P-DH spielen im Stoffwechsel endokrin aktiver Organe eine wichtige Rolle, denn sie benötigen als Coenzyme NADP bzw. NAD, welche in ihrer hydrierten Form essentiell bei der Synthese der Steroide beteiligt sind. GOT und GPT sind beides Enzyme, die im Eiweißstoffwechsel eine wichtige Rolle spielen und die Verbindung zum Citronensäurezyklus herstellen. Wie aus Tab. 11 hervorgeht, führt die diabetische Stoffwechsellage zu keinen signifikanten Änderungen in den Aktivitäten der bestimmten Enzyme ($P > 0,05$), wenn man sie auf das Frischgewicht der Plazenten bezieht. Nimmt man dagegen als Bezugssystem den Proteingehalt der Plazenten, was als Bezugssystem von einer wesentlich größeren Aussagekraft ist, so ist bei allen bestimmten Enzymen ein deutlicher Aktivitätsabfall für die diabetischen Plazenten zu verzeichnen. Die einzelnen Werte sind in der Tab. 12 in diesem Bezugssystem dargestellt.

Tab. 11: Enzymaktivitäten auf g/Fg. bezogen

<u>D i a b e t e s</u>					<u>K o n t r o l l e</u>				
	$\bar{x}$	s	n	Tz.*	$\bar{x}$	s	n	Tz.	
GOT ($\frac{U}{g}$ Fg.)	6,27	$\pm 1,99$	12	11	6,02	$\pm 2,25$	14	13	
LDH ($\frac{U}{g}$ Fg.)	85,9	$\pm 25,5$	12	11	76,2	$\pm 19,85$	14	13	
G-6P-DH ($\frac{U}{g}$ Fg.)	0,808	$\pm 0,152$	10	9	0,92	$\pm 0,136$	10	9	
MDH ($\frac{U}{g}$ Fg.)	127	± 51	6	6	120	$\pm 30,9$	6	6	
ICDH ($\frac{U}{g}$ Fg.)	2,03	$\pm 0,502$	7	7	1,885	$\pm 0,63$	8	7	
GPT ($\frac{mU}{g}$ Fg.)	138	± 78	7	6	151	± 46	11	10	

* Tz.: Tieranzahl

Tab. 12: Enzymaktivitäten auf 100 mg Protein bezogen

Enzyme (U/100 mg Protein)	Kontr.	Diab.	Aktivitätsabnahme in % im Vergleich zu den Kontrollen
GOT	12,5	8,3	≈ 33
LDH	158	112	≈ 25
G-6P-DH	1,91	1,07	≈ 44
MDH	250	168	≈ 33
ICDH	3,9	2,69	≈ 32
GPT	0,314	0,182	≈ 42



Bild 1



Bild 2

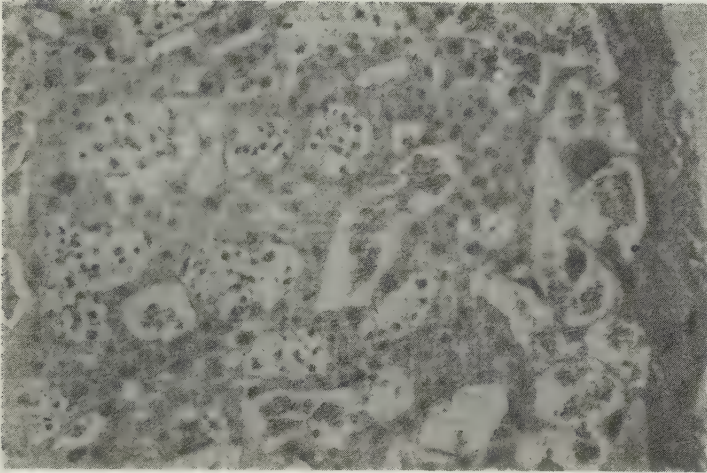


Bild 3

Bild 1, 2 u. 3: Histologische Schnitte durch
Rattenplazenten nach etwa
21tägiger Tragzeit aus einem
nichtbehandelten Kontrollkollektiv.
H.E.-Färbung nach Formalinfixierung.

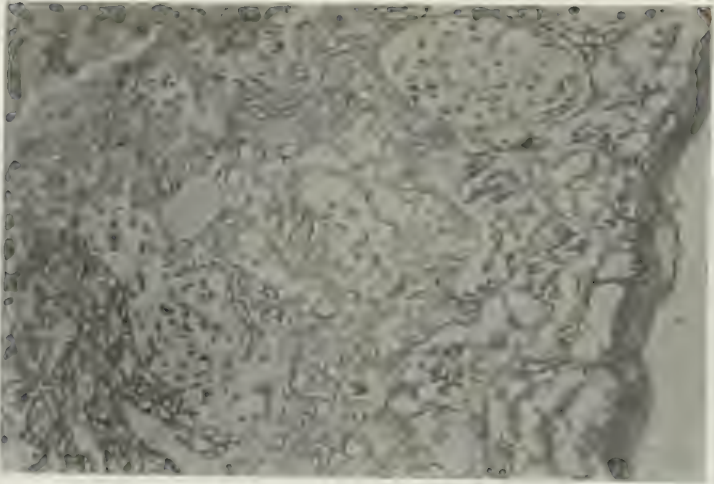


Bild 4



Bild 5

Bild 4 u. 5: Histologische Schnitte durch
Plazenten alloxandiabetischer
Ratten nach etwa 21tägiger Trag-
zeit.
H.E.-Färbung nach Formalinfixierung.

E. Diskussion

Ein Diabetes mellitus läßt sich experimentell mit Alloxan relativ leicht erzeugen. Wie die Untersuchungen von Gross, Harris und Beyer, 1972 sowie Younathan, 1962 zeigen, hat Alloxan cytotoxische Effekte und stört den mitochondrialen Stoffwechsel der β -Zellen im Pankreas. Bei nichtgraviden Ratten hat sich als Dosis die Gabe von 12 mg Alloxan/100g Ratte bewährt, liegt die Dosis über 15 mg Alloxan/100 g Ratte, so kommt es in einem hohen Prozentsatz zum Tod der Versuchstiere (Stähler, Neumann, Niethammer, 1976). Gravide Ratten reagieren viel empfindlicher auf Alloxan, so daß die Dosis, wie im Methodikteil dargestellt, nicht so hoch gewählt werden konnte. Die Toxizität des Alloxans und damit die Induktion eines Diabetes mellitus ist am größten, wenn das Alloxan in einem Phosphat-Puffer frisch angesetzt wird bei einem pH-Wert von 4,0 (Klebanoff, Greenbaum, 1954). Der Effekt des Alloxans auf die Morphologie und den Stoffwechsel von Rattenplazenten hängt weiterhin davon ab, zu welchem Zeitpunkt der Gravidität das Alloxan gespritzt wird. Tritt die Noxe zu einem späteren Zeitpunkt der Gravidität ein, so erscheint morphologisch das Bild der sogenannten *Maturitas praecox placentae* nach Horký, 1968 und 1965.

Wird dagegen Alloxan bereits zum Zeitpunkt der Konzeption oder kurz danach gegeben, so kommt es häufig zur vollständigen Resorption der fetalen Anlage sowie beim Bestehen der Fruchtanlage zu einer chronischen Plazentainsuffizienz.

Die Kenntnis der elementaren Mechanismen placentarer Funktionen ist beim Verständnis um die Entstehungsmöglichkeiten placentarer Insuffizienz von besonderer Bedeutung. Die Plazenta ist für den Feten Lunge, Darm und endokrine Drüse, sie oxygeniert das fetale Blut, verleiht ihm bestimmte Glucose- und Aminosäurekonzentrationen und bildet schließlich Hormone. Nach der heutigen Kenntnis wird die Glucose offensichtlich auf Grund eines Konzentrationsgefälles durch Diffusion vom maternen ins fetale Blut übertragen. Allerdings herrschen beim Glucosetransfer andere Bedingungen als bei dem Sauerstofftransfer. Sauerstoff gelangt durch die sogenannte freie Diffusion an das fetale Hämoglobin und bewirkt dadurch die Oxygenierung. Moleküle von der Größe der Glucose begegnen in den Membranen der Trophoblasten wie in anderen Zellmembranen einem besonderen Diffusionswiderstand. Um diesen Diffusionswiderstand der Zellmembranen für Glucose selektiv zu senken, scheinen Trophoblastzellmembranen wie die

Erythrocytenmembranen besondere Mechanismen für den Glucosetransport zu besitzen (Leichtweiss, Schröder, 1971). Allgemein wird angenommen, daß in der Membran Trägermoleküle vorhanden sind, welche die Glucosemoleküle auf der mütterlichen Seite aufnehmen, sie durch die Membran durchschleusen und sie auf der fetalen Seite wieder abgeben. Dieser Vorgang wird erleichterte oder katalysierte Diffusion genannt. Die Glucosekonzentration im Fetalblut ist somit abhängig vom Blutzuckerspiegel des intervillösen Raumes und damit des maternalen Blutes sowie von der Permeabilität der Zellmembranen des Synzytiotrophoblasten. Im Gegensatz zum Sauerstoff wird die Glucose im Feten gespeichert. Kurzzeitige Sperrung der Glucosezufuhr wird daher vom Feten ohne Nachwirkungen ertragen. Erst länger andauernde Sperrung der Glucosezufuhr führt zu entsprechenden Symptomen. Sauerstoff- und Glucosetransfer sind also passive Vorgänge. Energie ist hier nicht unmittelbar im Spiel. Diesen passiven Mechanismen stehen metabolische, energieverbrauchende und damit vom Energieangebot abhängige Mechanismen gegenüber. Diese Mechanismen werden aktive Mechanismen genannt. Einen aktiven Mechanismus stellt die endokrine Funktion dar. Die Trophoblasten produzieren Steroidhormone aus Präkursoren, welche teils

der mütterliche, teils der fetale Organismus liefert (Diczfalusy, 1970). Ein weiteres Beispiel eines aktiven Mechanismus ist der Aminosäuretransport vom mütterlichen in das fetale Blut. Die Zellmembranen der Trophoblasten besitzen Aminosäurepumpen. Eine solche Pumpe transportiert gegen ein Konzentrationsgefälle Aminosäuren in das Trophoblastinnere, um sie von dort in das Fetalblut diffundieren zu lassen (Young, 1971). Auf Grund dieses Mechanismus ist die Aminosäurenkonzentration des menschlichen Fetalblutes ungefähr doppelt so groß wie die des mütterlichen Blutes. Nicht metabolisierte Aminosäuren können in den Trophoblasten die zwanzigfache Konzentration der umgebenden Flüssigkeit erreichen (Longo, Yuen, Gusseck, 1973). Parameter der aktiven Leistungen der Plazenta sind 1. die enzymatische Kapazität der pumpenden und synthetisierenden Enzymsysteme, wovon einige wichtige im Rahmen dieser Studie bestimmt wurden (s. Tab. 11 und 12) und 2. das Plazentaminutenvolumen als Grundlage der notwendigen Stoff- und Energiezufuhr. Störungen der aktiven Leistungen resultieren deswegen aus Enzymdefekten, wie sie im endokrinologischen Bereich erwiesen sind, sowie aus einer Ischämie der Plazenta. Drosselung des mütterlichen wie des fetalen Plazentaminutenvolumens führen im Tierversuch z. B.

zum Abfall des Aminosäuretransfers ins fetale Blut (Reynolds und Young, 1971). Die Mechanismen placentarer Funktionen sind nach allgemeiner Anschauung einmal die freie Diffusion, die erleichterte Diffusion, dann der aktive Transport und chemischer Stoffumsatz. Alle Mechanismen setzen ein adäquates Plazentaminutenvolumen, eine adäquate Stoffkonzentration im mütterlichen Blut sowie eine adäquate Trophoblastenmasse voraus.

Ein zentraler Metabolit zur placentaren Energieversorgung ist die Glucose. Der Transport der Glucose durch die Membranen erfolgt in der Plazenta durch die sog. erleichterte Diffusion, d. h. die Glucose wird an einen Carrier angehängen und kann auf diese Weise schneller und in einer höheren Konzentration durch die Membran transportiert werden. Untersuchungen mit ^3H markierter D-Glucose und ^{14}C markierter L-Glucose an in situ perfundierten Meerschweinchenplazenten haben ergeben, daß bei der D-Glucose im Mittel 53 % des Angebotes transportiert werden, während die Transportrate für die L-Glucose nur 27 % betrug. Damit läßt sich als Eigenschaft der Plazenta für den Glucosetransport zeigen, daß es ein Transportsystem gibt, das die Diffusion fördert. Dieses ist stereospezifisch,

d. h. es kann unter den Stoffen auswählen und bevorzugt den D-Zucker gegenüber der L-Form. Weiterhin haben Untersuchungen ergeben, daß Störungen in der **Plazentadurchblutung** zu einer Einschränkung des Transportes führen, d. h. eine länger anhaltende Drosselung der Durchblutung oder toxische Einflüsse, die dem Stoffwechsel der Zelle Schaden zufügen, können möglicherweise auch die Transporteigenschaften vernichten (Leichtweiss, 1975). Die Kenntnis um diese Vorgänge ist insofern von Bedeutung, als es beim Diabetes mellitus durch die Veränderungen am Gefäßsystem sowie an der Basalmembran des Endothels zu einer Beeinträchtigung der Hämodynamik einerseits, als auch der Diffusionsstrecken andererseits, kommt. Der intrazelluläre Glucosegehalt nimmt in diabetischen Plazenten stark zu, was aus den in Abb. 5 dargestellten Ergebnissen deutlich hervorgeht. Interessanterweise nehmen diabetische im Vergleich zu normalen Plazenten unter in vitro Bedingungen aus dem Inkubationsmedium mehr Glucose auf (Fischer, Horký, 1966). Die Utilisierung der Glucose aber, d. h. die Nutzbarmachung für den Stoffwechsel, ist beim Diabetes mellitus in der Plazenta deutlich gemindert (Uher, 1969). Das bedeutet, die anflutende Glucose aus dem mütterlichen Organismus wird zwar in der Plazenta

vermehrt aufgenommen, kann aber für die embryonale Anlage nicht voll genutzt werden. Die Verstoffwechselung der Glucose läuft über den sog. Embden-Meyerhof-Weg, unter anaeroben Verhältnissen wird primär Laktat synthetisiert, unter aeroben Verhältnissen primär Pyruvat. Wie die Untersuchungen deutlich zeigen, kommt es in den diabetischen Plazenten zu einem signifikanten Anstieg der Pyruvatkonzentration, während Laktat unter den angegebenen Bedingungen in der Plazenta keine Konzentrationsänderung erfährt. Die weitere Metabolisierung des Pyruvats erfolgt nun vorwiegend zum Acetyl-Co A, das einmal zusammen mit Oxalacetat Ausgangssubstrat für den Zitronensäurezyklus ist und damit über die Einschleusung von Wasserstoffionen in die Atmungskettenphosphorylierung zur Energiegewinnung mit beiträgt. Zum anderen ist Acetyl-Co A Ausgangsprodukt für die Cholesterin- und Steroidsynthese, auch der Aufbau der Fettsäuren erfolgt über Acetyl-Co A. Die Befunde sprechen dafür, daß der induzierte Diabetes mellitus in den hier untersuchten Rattenplazenten noch nicht zu einer anaeroben Situation geführt hat, auch das morphologische Bild einer Maturitas praecox placentae mit seinen überschießenden Epithelproliferationen spricht für diesen Befund. Durch das erhöhte

Glucoseangebot kommt es sicherlich zu einem Substratdruck, wodurch der erhöhte Pyruvatspiegel zu erklären wäre. Die verminderte Glucoseutilisierung liegt beim Diabetes möglicherweise an einer Aktivitätsminderung der Hexokinase, die unter Insulin wieder aufgehoben wird (Villée, 1953).

Glykogen, ein Polymer der Glucose, kann durch phosphorolytische Spaltung als Glucosebruchstück in die Glykolyse eingeschleust werden (Karlson, 1970). Interessanterweise nimmt der Glykogengehalt diabetischer Rattenplazenten stark zu (s. Abb. 5), dieser Befund konnte auch von anderen Autoren an menschlichen Plazenten erhoben werden (Heijdenskjöld, Gemzell, 1957 und Fischer, Horký, 1966). Nach den Untersuchungen dieser Autoren scheint eine Beeinflussung des plazentaren Glykogengehaltes durch den mütterlichen Blutglucosegehalt möglich zu sein, was eine Erklärung für den hohen Glykogengehalt sein könnte. Die plazentaren Glykogendepots sollen nach diesen Untersuchungen vom mütterlichen Stoffwechsel gar nicht, vom fetalen auch nur kaum zur Energiegewinnung genutzt werden. Huggett 1963 unterstützt diese Aussage insofern, als er zeigen konnte, daß das plazentare Glykogen sich nur dann vermindert, wenn wiederholt Insulin injiziert wird, das Hormon also, das im diabetischen Zustand fehlt.

Es ist also die Frage zu stellen, welche Bedeutung diesem hohen Glykogenspiegel zukommt. Die Nichtnutzung des Glykogendepots könnte einmal ein Anzeichen einer Retardierung der fetalen Entwicklung darstellen, wie es auch von Heijkskjöld und Gemzell (1957) angedeutet wurde, zum anderen könnte es aber auch im Zusammenhang mit aktiven Stoffwechselleistungen der Plazenta stehen, wie sie von Longo, Yuen, Gusseck (1973) diskutiert werden. Diese Autoren konnten nämlich zeigen, daß die menschliche Plazenta in der Lage ist, Aminosäuren unter anaeroben Bedingungen entgegen einem Konzentrationsgefälle zu akkumulieren. Die dafür notwendige Energie sollte aus Glykogenvorräten gewonnen werden. Die Ergebnisse scheinen zu zeigen, daß das hohe Glykogenangebot in der diabetischen Plazenta nicht dazu genutzt wird, nach Depolymerisierung über eine Einschleusung in die Glykolyse oder in den Pentosephosphatzyklus zur ATP-Synthese mit beizutragen. Sowohl die Ergebnisse zum Verhalten der beiden energiereichen Phosphate ATP und ADP, als auch die Aktivitätsminderung der G-6P-DH, einem Schlüsselenzym des Pentosephosphatzyklus, sprechen dafür, daß die als Glykogen angelegten Energiedepots in der diabetischen Plazenta keine entsprechende Verwertung finden können. In diesem Zusammenhang sind auch die Untersuchungen

von Okudaira et al. (1966) von Bedeutung, die zeigen, daß die Mitochondrien in diabetischen Synzytiotrophoblasten geschwollen sind, daß die Cristae teilweise deformiert werden und die Mitochondriendichte im Cytoplasma deutlich vermindert ist. Das alles deutet darauf hin, daß die Energiegewinnung in diabetischen Plazenten gestört ist. Dieses Phänomen aber scheint von besonderer Bedeutung zu sein, denn blockiert man den Zitronensäurezyklus oder die Glykolyse mit Monojodacetat oder Natriumfluorid, so läßt sich z. B. an der Meerschweinchenplazenta eine sofort einsetzende Plasmapolypenbildung induzieren. Wird die Blockade der Glykolyse oder des Zitronensäurezyklus umgangen durch die Gabe von Pyruvat, das dann über Acetyl-Co A in den Zitronensäurezyklus einfließen kann, so kann die Bildung der Plasmapolypen vollständig unterdrückt werden (Thorn, Kaufmann, Müldener, 1974). Bei ausreichendem Energieangebot bleibt also die übersteigerte Proliferation aus. Die Proliferation selbst muß wohl dabei als ein Kompensationsmechanismus gewertet werden, womit versucht wird, die strukturelle Basis für eine Verbesserung der nutritiven Situation zu schaffen. Die Ergebnisse zeigen, daß der ATP-Gehalt, d. h. die zur Verfügung stehende Energie, in den diabetischen Plazenten abnimmt (s. Tab. 1). Dieser Befund

steht im Einklang mit der beobachteten Aktivitätsminderung der wasserstoffübertragenden Enzyme, wodurch weniger Wasserstoffmoleküle die Kaskade der Atmungskette durchlaufen und weniger ATP für den Stoffwechsel gewonnen werden kann. Auch die Sauerstoffaufnahme präeklampscher und diabetischer Plazenten soll herabgesetzt sein (Friedman , Little, Sachtleben, 1962), ein Befund, der sich lückenlos in die gewonnenen Ergebnisse einreicht.

Diabetische Plazenten, die nicht resorbiert werden, zeigen bei Ratten vorwiegend eine Maturitas praecox mit den Zeichen einer übersteigerten Proliferation. Aus diesem Grunde schien es von Bedeutung zu sein, den Proteingehalt in den diabetischen Plazenten zu überprüfen, und wie die Ergebnisse zeigen (s. Tab. 8), nimmt der Proteingehalt deutlich zu. In diesem Zusammenhang sind die Untersuchungen von Tarachand und Eapen (1974) von Bedeutung, die beim experimentell erzeugten Diabetes mellitus zeigen konnten, daß die Inkorporation von ^{14}C markiertem Leucin in Protein zwar in der Leber von Mäusen, aber nicht in der Plazenta, beeinträchtigt wird. Auch die Untersuchungen von Okudaira (1966) sprechen für eine Vermehrung des Proteins, es konnte auch gezeigt werden, daß im villosen Stroma reichlich Kollagenfasern vorhanden waren,

zusätzlich wurden auch in diesem Stroma Strähnen von basalmembranartigem Material gefunden. In diesem Zusammenhang sind Untersuchungen über den Gehalt der Plazenten an DNA und RNA von besonderem Interesse, denn bei Organen, die aus zellulären Elementen aufgebaut sind, erlaubt der DNA-Gehalt, wenn er auf das Gewebevolumen bezogen wird, eine Aussage über die Anzahl der Zellen in einem Gewebeverband. Die RNA-Menge läßt Rückschlüsse auf die metabolische Aktivität und die Größe der Einzelzelle zu. Da die Zotten der menschlichen Plazenta zumindest zu 80 % ihrer Gesamtmasse nicht mehr zellulär gegliedert sind, sondern zu einem Synzytium verschmolzen sind, können Angaben zum DNA-Gehalt lediglich ein Maß für die Kernzahl, die RNA-Menge ein Maß für die allgemeine metabolische Aktivität, sein. In Untersuchungen von Gerner, Halberstadt, Römer und Stein (1974) konnte tatsächlich festgestellt werden, daß der DNA- und RNA-Gehalt in diabetischen Plazenten im Vergleich zu Normalkontrollen tatsächlich zunimmt. Die Autoren Winick und Noble (1966) berichten, daß das RNA/DNA-Verhältnis unter Stressbedingungen in der Plazenta zunimmt, Gluck et al. (1964), auch hormonelle Faktoren sollen dabei von Bedeutung sein (Moore et al., 1964). Wenn man davon ausgeht, daß der Diabetes einen metabolischen Stress

darstellt, könnte das gesteigerte RNA/DNA-Verhältnis als Beweis für die vermehrte Proteinsynthese angeführt werden. In vivo und in vitro Untersuchungen im hypoxischen Milieu haben erbracht, daß auch der Sauerstoffmangel einen Anstieg der RNA- und DNA-Synthese hervorruft. Sauerstoffmangel kann demnach als Stimulus einer verstärkten Syntheserate von RNA und DNA in Betracht kommen, die zur Hyperplasie des Cytotrophoblasten und Hypertrophie der zytoplasmatischen Aktivität führt, was als sogenannter "repair-Mechanismus" für das durch Hypoxie geschädigte Synzytium aufgefaßt werden kann.

Die Untersuchungen über die Aktivitäten einiger wichtiger Enzyme in den diabetischen Plazenten haben ergeben, daß die Enzymaktivitäten bezogen auf das Frischgewicht der Plazenten keine signifikanten Änderungen erfahren. Werden die Enzymaktivitäten jedoch auf den Proteingehalt der Plazenten bezogen, was sicherlich eine adäquatere Bezugsgröße darstellt, so zeigt sich, daß bei allen bestimmten Enzymen ein Aktivitätsverlust durch den Diabetes in der Größenordnung von 25 - 44 % eintritt. Aus diesem wichtigen Befund darf gefolgert werden, daß die tatsächlich vorhandene Proteinzunahme in den diabetischen Plazenten nicht durch eine Neusynthese von Enzymen hervorgerufen wird,

sondern daß es sich möglicherweise um die Bildung vermehrter Strukturproteine handelt. Eingehende Untersuchungen von Brandau (1974) über die Abhängigkeit endokrinologischer Parameter vom Enzymaktivitätsmuster der Plazenta haben gezeigt, daß eine Verminderung der mitochondrialen Aktivitäten der Glutamat-Dehydrogenase und der GOT, die in enger Beziehung zum Aminosäurestoffwechsel stehen, über eine Störung der Proteinsynthese ein Absinken des HPL-Plasmaspiegels hervorruft. Für die Östrogenausscheidung ließen sich andere Bezugspunkte im Enzymaktivitätsmuster der Plazenten nachweisen. Ein Absinken der Fruktose-6-Phosphat-Kinase, die den Gesamtfluß durch die Glykolyse repräsentiert, sowie der Abfall der MDH, ICDH und G-6P-DH gingen mit einem Abfall der Östrogensekretion einher. Die Ergebnisse über die Bestimmung der Enzymaktivitäten deuten demnach darauf hin, daß in diabetischen Plazenten der Steroidhormonstoffwechsel sowie der Proteohormonstoffwechsel wahrscheinlich mitgestört sind.

Die diabetische Stoffwechselsituation der graviden Muttertiere hatte unter den beschriebenen Versuchsbedingungen nicht zu der Bildung von diabetischen Riesenfeten geführt, es konnte vielmehr festgestellt

werden, daß das fetale und plazentare Gewicht beim Diabetes signifikant unter dem der Normalkontrollen lagen. Dieser Befund spricht für die Angaben von Pitkin, Plank und Filer (1971), die bei einem ausgeprägten Diabetes mellitus ebenfalls keine Makrosomie beschrieben. Es ist natürlich zu fragen, woran dieses offensichtlich verminderte intrauterine Wachstum liegt. Busch (1974) diskutiert, daß das verminderte intrauterine Wachstum fast stets auf eine verminderte Zufuhr von Aufbaustoffen zum Feten bedingt ist (Kubli, 1967). Das ist insofern interessant, als in diabetischen Plazenten das Angebot an Glucose, Glykogen, Pyruvat und Protein offensichtlich erhöht ist, und in der Frühschwangerschaft die Plazenta tatsächlich ein Kohlenhydrat-Depot für den Feten darstellt (Heijkenskjöld, Gemzell, 1957). Es wäre demnach aus den Ergebnissen zu folgern, daß das in der Plazenta vorhandene Energieangebot für den Feten in der diabetischen Plazenta nicht nutzbar gemacht werden kann.

Die Untersuchungen wurden durchgeführt an Plazenten alloxan-diabetischer Ratten. Bestimmt wurden wichtige Substrate des Energiestoffwechsels (ATP, ADP, Laktat, Pyruvat, Glucose, Glykogen) sowie die wasserstoffübertragenden Enzyme MDH, ICDH, LDH, G-6P-DH und die beiden Transaminasen GOT, GPT. Zusätzlich wurde der Proteingehalt als auch fetales und plazentares Gewicht ermittelt.

Der Diabetes mellitus bewirkte in den Plazenten folgende Stoffwechselveränderungen:

1. Abfall des ATP/ADP-Quotienten.
2. Signifikanter Anstieg des Pyruvatgehaltes bei unverändertem Laktatspiegel.
3. Glucose und Glykogen sind stark erhöht.
4. Proteingehalt gesteigert bei signifikant erniedrigtem plazentarem und fetalem Gewicht.
5. Alle bestimmten Enzyme weisen, auf das plazentare Protein bezogen, einen deutlichen Aktivitätsabfall von $\approx 25 - 44 \%$ auf.

Diese Befunde deuten darauf hin, daß der alloxan-induzierte Diabetes mellitus in den Plazenten einmal zu einer Einschränkung der oxydativen Phosphorylierung führt mit dem Erfolg, daß sich das Energieangebot

reduziert. Zum anderen dürfte sicherlich der Eiweiß- und Steroidstoffwechsel beeinträchtigt sein.

Das durch den Diabetes erhöhte Glucoseangebot wurde offensichtlich unter den dargestellten experimentellen Bedingungen noch aerob verstoffwechselt. Wie auch die fetalen Gewichte demonstrieren, ist die Entwicklung des Keimlings beim Diabetes gestört.

Berger, J.

Arch. Gynäk. 189, 95, 1957

Die perinatale kindliche Mortalität an der
Universitätsfrauenklinik Basel, 1906 - 1955

Brandau, H.

Arch. Gynäk. 219, 380 - 382, 1974

Abhängigkeit endokrinologischer Parameter vom
Enzymaktivitätsmuster der Plazenta

Busch, W.

Arch. Gynäk. 216, 167 - 174, 1974

Das fetale Risiko bei chronischer nutritiver
Placentainsuffizienz unterschiedlicher Pathogenese

Diczfalusy, E.

Symp. Dtsch. Ges. Endokrin. 16,32 - 46, 1970

A Modified Theory Of Steroid Synthesis
In The Human Foeto-Placental Unit

Fischer, U., Z. Horký

Zentralblatt für Gynäkologie

Heft 42, 1427 - 1434, 1966

Vorläufige Untersuchungen zum Glykogengehalt
sowie Sauerstoff- und Glukoseverbrauch der
Plazenta in vitro bei Diabetes mellitus

Friedman, E. A., W. A. Little, M. R. Sachtleben

Am. J. Obst. Gynec. 84, No. 5, 561 - 569, 1962

Placental Oxygen Consumption In Vitro

II. Total Uptake As An Index Of Placental Function

Gerner, R., E. Halberstadt, E. Römer, W. Stein

Arch. Gynäk. 219, Heft 1 - 4, 379, 1974

DNS- und RNS-Bestimmung in normalen und
pathologisch veränderten Plazenten

Gluck, L., N. J. Talner, H. Stern, T. H. Gardner,
M. Y. Kulovich

Science, 144, 1244 - 1245, 1964

Experimental Cardiac Hypertrophy: Concentrations
Of RNA In The Ventricles

Gross, M. D., S. Harris, R. E. Beyer

Horm. Metab. Res. 4, 1 - 7, 1972

The Effect Of Streptozotocin-Induced Diabetes
On Oxidative Phosphorylation And Related Reactions
In Skeletal Muscle Mitochondria

Heijckenskjöld, Frank, Carl A. Gemzell

Acta Paediatrica 46, 74 - 80, Jan. 1957

Glycogen Content In The Placenta Of Diabetic Mothers

Heisig, N.

Diabetes und Schwangerschaft, 1 - 165, 1975

Georg Thieme-Verlag Stuttgart (1975)

Perinatale Mortalität bei Diabetes

Horký, Z.

Zentralblatt für Gynäkologie

Heft 45, 1555 - 1564, 1965

Die Reifungsstörungen der Plazenta bei Diabetes mellitus

Horký, Z.

Wiss. Zeitschrift der Fr. Schiller Univ. Jena

Math.-Naturw. Reihe, Heft 1, Jahrgang 17,

84 - 86, 1968

Besonderheiten der Plazenta bei Diabetes mellitus

Huggett, A. St. G.

Arch. Gynäk. 198, 169 - 175, 1963

Untersuchungen über den Kohlenhydrat-Stoffwechsel
der Placenta

Huntingford, P. J.

Zbl. Gynäk. 86, 1427, 1964

Die mütterliche Mortalität in England und Wales

Karlson, P.

Georg Thieme-Verlag Stuttgart, 1970

Kurzes Lehrbuch der Biochemie

Klebanoff, S. J., A. L. Greenbaum

J. Endocrin. 11, 314 - 322, 1954

The Effect Of pH On The Diabetogenic Action
Of Alloxan

Kubli, F.

Dtsch. med. Wschr. 92, 1924 - 1932, 1967
Intrauterine Mangelernährung und Mangelentwicklung (intrauterine somatische Retardierung)

Lane, R. E.

Am. J. Obst. Gynec. 85, 52, 1963
Maternal Mortality In Chicago, 1956 - 1960

Lawrence, A. M., A. N. Contopoulos

Acta Endocrinologica 33, 175 - 184, 1960
Reproductive Performance In The Alloxan Diabetic Female Rat

Lehmann, W. D., Ch. Lauritzen, R. Schumann

Acta Endocrinologica 73, 771 - 789, 1973
In Vitro Conversion Of (4-¹⁴C) Dehydroepiandrosterone And Androstenedione To Oestrogens By The Microsomes Of Placentas From Normal, Toxaemic, Diabetic And Postmature Pregnancies

Leichtweiss, H.-P., H. Schröder

Pflügers Arch. Eur. J. Physiol. 325 (2), 139 - 48, 1971
Investigations On Glucose Transport Across The Isolated Artificially Perfused Placenta Of The Guinea Pig

Leichtweiss, H. P.

Arch. Gynäk. 219, 353 - 355, 1975
Untersuchungen zur Transportcharakteristik für Glucose an der isolierten Meerschweinchenplazenta

Longo, Lawrence D., Peter Yuen, David J. Gussek

Nature Vol. 243, 531 - 533, June 29, 1973
Anaerobic, Glycogen-dependent Transport Of Amino Acids By The Placenta

Mohr, U., J. Althoff, H. Wrba

Naturwissenschaften, Heft 18, Jg. 51, 440, 1964
Morphologische Veränderungen der Rattenplazenta beim Alloxandiabetes

Moore, R. J., T. H. Hamilton

Proc. U.S. Nat. Acad. Sci., 52, 439 - 446, 1964
Estrogen-Induced Formation Of Uterine Ribosomes

Okudaira, Y., M. D., K. Hirota, M. D., S. Cohen, M. D.,
L. Strauss, M. D.

Laboratory Investigation
Vol. 15, No. 5, 910 - 926, 1966
Ultrastructure Of The Human Placenta In Maternal
Diabetes Mellitus

Pitkin, R. M., C. J. Plank, L. J. Filer, Jr.

P. S. E. B. M., Vol. 138, 163 - 166, 1971
Fetal And Placental Composition In Experimental
Maternal Diabetes

Reynolds, M. L., M. Young

J. Physiol., Lond. 214, 583 - 97, May 71
Transfer Of Free α -Amino N Across The
Placental Membrane In The Guinea Pig

Sachs, Lothar

Springer-Verlag (1970), 1972: 2. neubearb. Auflage
Statistische Methoden, Ein Soforthelfer

Schuhmann, R., W. D. Lehmann

Arch. Gynäk. 215, 72 - 84, 1973
Beziehungen zwischen Placentamorphologie
und biochemischen Befunden bei EPH-Gestose
und Diabetes mellitus

Solomon, F.

Diabetes 8, 45 - 50, 1959
Embryomegaly And Increased Fetal Mortality In
Pregnant Rats With Mild Alloxan Diabetes

Stähler, E., H. O. Neumann, K. M. Niethammer

Arch. Gynäk. 220, 199 - 208, 1976
Metabolism And Ultrastructure In Ovaries Of
Alloxan-Diabetic Juvenile Rats

Tarachand, U., J. Eapen

Horm. Metab. Res. 6, 280 - 283, 1974
Effect Of Streptozotocin-Diabetes On In
Vivo Protein Synthesis By Placenta And Liver
Of Mice

Thomsen, K., G. Lieschke

Acta Endocrinologica 29, 602 - 614, 1958
Untersuchungen zur Placentamorphologie
bei Diabetes mellitus

Thorn, W., P. Kaufmann, B. Mıldener

Arch. Gynäk. 216, 175 - 183, 1974

Kohlenhydratumsatz, Energiedefizit und Plasmapolypen-
bildung in der Placenta nach Vergiftung mit Monojod-
acetat und Na F

Topping, J.

Physik Verlag, Verlag Chemie 1975
Fehlerrechnung

Uher, J. (1969) in:

Feto-Placental Unit, 240 - 254, 1969; Hgrs.: E. Dicz-
falusy
Metabolism Of The Trophoblast In Tissue
Culture Under Normal And Modified Conditions

Villee, Claude A.

J. B. C. 205, 113 - 123, 1953

The Metabolism Of Human Placenta In Vitro

Winick, Myron, Adele Noble

Nature, Vol. 212, No. 5057, October 1, 34 - 35, 1966
Quantitative Changes In Ribonucleic Acids And
Protein During Normal Growth Of Rat Placenta

Winick, Myron, Adele Noble

The Journal of Pediatrics, Vol. 71, Number 2,
216 - 219, August, 1967
Cellular Growth In Human Placenta
II. Diabetes Mellitus

Younathan, E. S.

J. Biol. Chem. 237, 608 - 611, 1962

Inhibition Of The Citric Acid Cycle By Alloxan

Young, M. (1971) in:

Metabolic Processes In The Foetus And Newborn
Infant; Jonxis I. H. P., Visser H. K.,
Troelstra J. A. (eds.), 97 - 110, 1971
H. E. Stenfort Kroese N. V., Leiden NL
Placental Transport Of Free Amino Acids

Für die Vergabe des Themas und seine hilfreiche
Unterstützung bei dieser Arbeit danke ich recht
herzlich Herrn Priv.-Doz. Dr. E. Stähler.

L e b e n s l a u f

Name: Ulrich Cirkel

Geburt: 12. Februar 1952 in Dortmund

Eltern: Versicherungskaufmann Wilhelm Cirkel
und Ehefrau Margarete geb. Kusche

Wohnort: 5901 Wilnsdorf-Oberdielfen, Im Seifen 21

Schulzeit: 1958 - 1962 Volksschule in Siegen
1962 - 1970 Städt. Gymnasium Siegen i. Westf.
22. 6. 1970 Abitur auf dem mathematisch-
naturwissenschaftlichem Zweig

Studienzeit: WS 1970/71 - SS 1976 Studium der Human-
medizin an der Philipps-Universität in
Marburg

Examina: 28. 9. 1971 naturwissenschaftliche Vorprüfung
27. 3. 1973 ärztliche Vorprüfung
5. 8. 1976 medizinische Staatsexamen

Im klinischen Teil des Studiums leitete ich als Tutor
während mehrerer Semester ein Tutorium in Anatomie für
Studienanfänger der Humanmedizin.

Meine akademischen Lehrer waren:

Amon, Aurich, Aziz, Braasch, Buchholz, Daume,
Dehnicke, Dimroth, Dittrich, Dombrowski, Egbring,
Eißner, Eschenbach, Exner, Friederich, Fruhstorfer,
Ganz, Gerdes, Golenhofen, Gottesbüren, Graul,
Grundner, Haberich, Hamelmann, Hardewig, Havemann,
Hensel, Hering, Hess, Hildebrandt, Hort, Huch,
Jacob, Kaffarnik, Karlson, Klaus, Klein, Kleinsasser,
Knauff, Koecke, Koransky, Kuni, Lauer, Linneweh,
Lorenz, Ludwig, Lütcke, Mannheim, Maroske, Martini,
Massarat, Neurath, Niemeyer, Petry, Portig, Pots,
Priebe, Remschmidt, Richter, Riecken, Rodeck, Rohen,
Schachtschabel, Schiff, Schmid, Schneider, Seifart,
Siegert, Slenczka, Solcher, Stähler, Thoenes,
Wehrmeyer, Welge-Lüssen, Wesemann, Willenbockel.

